Guía del usuario

Tissue-Tek® Paraform®

Introducción

La automatización total del proceso de inclusión es posible gracias al sistema de casetes Tissue-Tek® Paraform®, que se ha diseñado para su uso con el instrumento Tissue-Tek® AutoTEC® de próxima aparición. Este s de casete seccionables Paraform® también puede utilizarse como sustitución del sistema de casetes "manual" para los actuales diseños Uni-Cassette®. Paraform® es una auténtica revolución en el diseño de casetes. Hace que la preparación de tejidos sea como mínimo un 50% más simple y rápida que las técnicas actuales. La muestra tallada se inserta en el casete y el marco con la orientación adecuada. Se desciende la tapa para asegurar la muestra entre la tapa y el fondo del casete. De este modo se asegura el mantenimiento de la orientación. Tras ello, se realiza el procesamiento sin necesidad de cambiar programas.

No es necesario abrir el casete y manipular el tejido durante la inclusión. El marco se coloca en el molde base y tras ello se presiona el casete hacia abajo del molde base para la inclusión. La orientación se mantiene dentro del casete seccionable y no es necesario recortar parafina alrededor del casete antes de seccionar. El material utilizado para fabricar el casete Paraform® presenta características de seccionamiento similares a la parafina. Permite al usuario seccionar a través de la parte inferior del casete sin que se produzcan artefactos y sin dañar la cuchilla. El material de Paraform® no se tiñe y no afecta a la hora de examinar al microscopio.

Sistema de casetes seccionables Paraform®

La preparación de muestras de tejidos resulta más fácil y cómoda con el sistema de casetes seccionables Paraform®. En esta Guía de usuario se explica el uso del sistema de casetes seccionables Paraform® y sus consumibles. Al final de cada sección se incluye información adicional sobre lo que conviene hacer o evitar. El sistema de casetes seccionables Tissue-Tek® Paraform® se ha diseñado para usarse con el sistema de inclusión automatizado Tissue-Tek® AutoTEC®.

Elemento	Descripción Paraform®
7019	Casete de biopsia 13*13
7020	Casete de biopsia
7021	Casete estándar
7022	Casete de orientación
7023	Casete de biopsia Shaved
7024	Casete de biopsia Core
7070-7081	Marcos apilados (12 colores)
7030–7041	Marcos (12 colores)
7052	Medio de inclusión
7089	Cuchilla de micrótomo desechable
7015	Cuño de casetes
7055–7057	Moldes base

Sakure Finetek Europe B.V. | Flemingweg 10a, 2408 AV Alpen a/d Rijn | Países Bajos
Teléfono: +31 (0) 88 592 00 00 | Fax: +31 (0) 88 592 00 01 | sakura@sakura.eu | www.sakura.eu

Productos

El sistema Paraform ® consta de dos partes:

1. Casete seccionable interior con tapa incorporada (seis tipos diferentes).
2. Marco exterior.

Casete estándar (24x27 mm)

Casete de orientación (26x19 mm)

Especificaciones del casete seccionable:

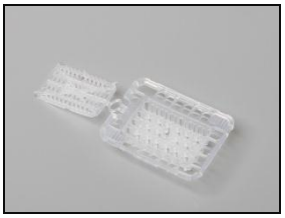
- ✓ Estable a gran variedad de temperaturas (23–100 °C)
- ✓ Resistente a los disolventes, reactivos y fijadores más habituales en histología (xileno, cloroformo, formol, acetona, etcétera.)

Casete de biopsia (26x19 mm)

Casete de biopsia Shaved (26x19 mm)

- ✓ No permeable e inerte, por lo que no se tiñe ni absorbe otros reactivos cromogénicos.
- ✓ Seccionable en todos los micrótomos de uso habitual. Flexible, se corta con la misma facilidad que la parafina sólida.

Casete de biopsia 13×13 (13x13 mm con esponja)



Casete de biopsia Core (26x19 mm)

El marco exterior

- ✓ El marco Paraform® es universal y tiene las mismas dimensiones externas que los Tissue-Tek® Uni-Cassette®.
- ✓ Los casetes son compatibles con los micrótomos e impresoras de uso estándar.
- ✓ Disponible en doce colores únicos.

Marcos en doce colores únicos.

Ensamblaje

Un ensamblaje adecuado del casete Paraform®, con correcta orientación del tejido y colocación en el rack cargador de casetes es muy importante para procesar e incluir el tejido. Cuando se realiza correctamente en el momento del tallado, el tejido continúa durante el procesamiento, inclusión manual o inclusión con AutoTEC® hasta la microtomía sin alteraciones ni re-orientación.

Procedimientos de ensamblaje

1. Seleccione el tamaño de casete apropiado y el marco de color para el tejido. (consulte las hojas de especificaciones)
2. Etiquete la superficie de escritura del marco para obtener una fácil identificación.
3. Coloque el marco en una superficie plana.

Figura 1

4. Inserte el casete en el marco en un ángulo de 45° colocando el borde exterior del casete entre las dos lengüetas del marco **(Figura 1)**.
5. Asegúrese de que el casete está situado justo por debajo de las cuatro lengüetas **(Figura 2)**.

Figura 2

Nota: un montaje correcto de los casetes Paraform ® es fundamental para su uso con Tissue-Tek® AutoTEC®.

Figura 3 (montaje incorrecto);
El casete interior se ha presionado demasiado hacia abajo.

Figura 3

Tallado del tejido

Recomendaciones para la colocación del tejido;

1. Usando unas pinzas, coloque la muestra de tejido en el centro del casete (**Figura 4**);
2. Coloque las superficies críticas del tejido cara abajo;
3. Coloque los tejidos a 2 mm de los lados.
4. Inclusión de varias piezas en un casete (**Figura 5**):

Figura 4

- ✓ Recorte los tejidos todo lo posible para que tengan el mismo espesor.
- ✓ 2 mm de separación entre muestras grandes
- ✓ Muestras con espesores distintos: Agrupe los espesores similares y colóquelos en el mismo área, si no el tejido puede migrar durante el procesamiento.
- ✓ Cuando el tamaño y el grosor de varios tejidos varíe demasiado, utilice más de un casete.

Figura 5

Cierre del casete

1. Lleve la tapa hacia adelante para cubrir el tejido y presiónela suavemente en el centro de la parte frontal con el dedo o pinzas. (**Figura 6a+b**)
2. Cierre las cuatro esquinas hasta que la tapa quede sujeta y bloqueada.
3. No presione demasiado fuerte en las esquinas. Mantenga la tapa en posición horizontal.
4. Una vez cerrada y asegurada la tapa, permanecerá en su sitio durante el procesamiento y la inclusión. El tejido se mantiene en su posición.

<u>Nota</u>: el casete para biopsias Paraform® 13*13 se cierra haciendo clic en los 3 pestillos.

Figura 6a

Figura 6b

Colocación incorrecta del tejido;

Coloque los tejidos como mínimo a 2 mm de los lados

Figura 7a

Figura 7b

Cierre el casete hasta que la tapa quede sujeta en las 4 esquinas y bloqueada.
(Figura 8)

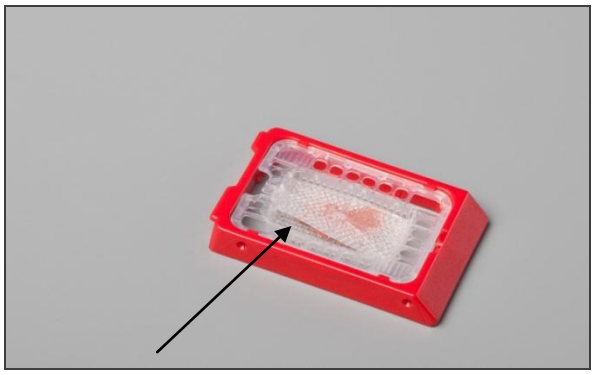


Figura 8

No presione las esquinas DEMASIADO. Mantenga la tapa en posición horizontal. Si la tapa está en posición horizontal, sosteniendo el tejido, ésta no interferirá durante la microtomía.
(**Figura 9**)

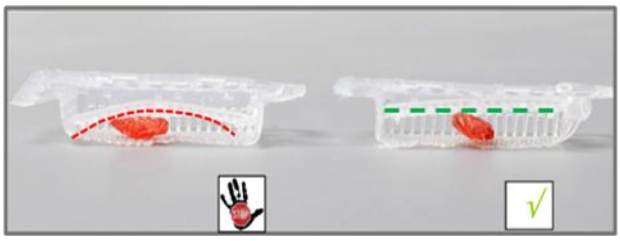


Figura 9

Colocación de los casetes en los cargadores de casetes;

1. Inserte los casetes correctamente en el soporte (**Figura 10a**).
2. Presione suavemente hacia abajo la pieza de retención del soporte de casetes para asegurar los casetes (**Figura 10b**).
3. Cierre la tapa del soporte de casetes (**Figura 10c**).

- ✓ Todas las tapas bien cerradas
- ✓ Borde de escritura hacia adelante (hacia la tapa del soporte de casetes)
- ✓ Todos los casetes con el lado adecuado hacia arriba
- ✓ Cada soporte contiene un máximo de 32/20 casetes.

Figura 10a

Figura 10b

Figura 10c

Ejemplos de colocación incorrecta de los casetes

Ejemplos de colocación incorrecta de los casetes en los soportes:

1. Utilice sólo casetes Paraform®
2. No apile los casetes con la superficie de escritura hacia atrás (**Figura 11a**)
3. No apile los casetes cabeza abajo (**Figura 11b**)
4. Los casetes del soporte deben apilarse rectos. (**Figura 11c**). No deje huecos entre los casetes debido a:

- ✓ Casetes mal colocados en los marcos
- ✓ Tapas abiertas
- ✓ Exceso de parafina tras el procesamiento

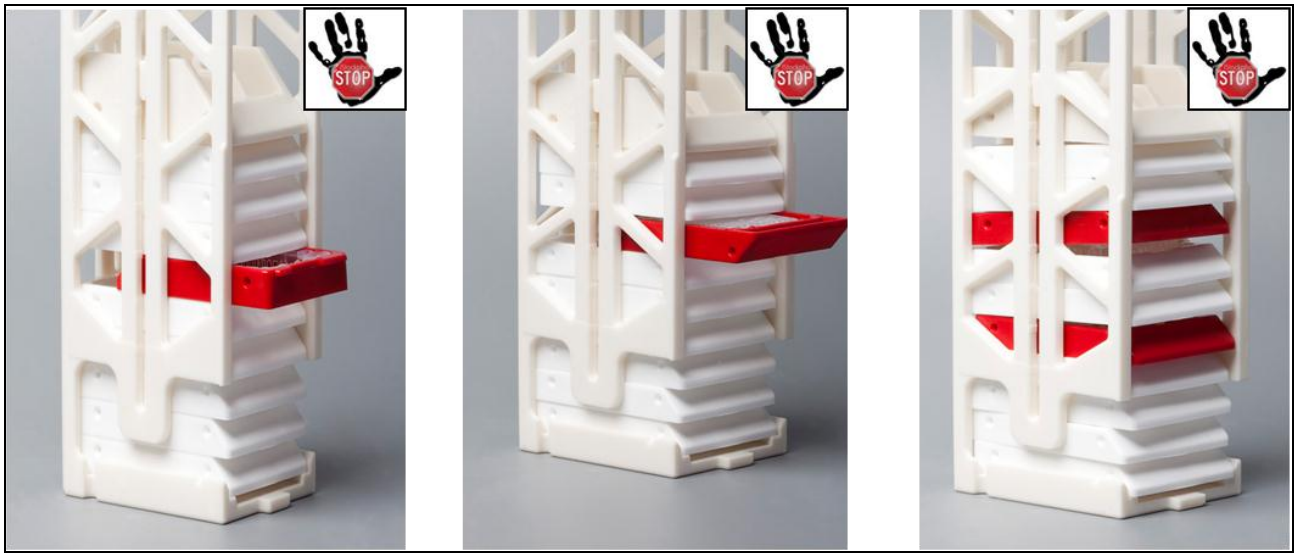


Figura 11a *Figura 11b* *Figura 11c*

<u>Nota</u>: Nunca utilice más de (Figura 12a):

- ✓ **32 casetes en un AutoTEC® 32-C (Código de artículo 7005)**
- ✓ **20 casetes en un AutoTEC® 20-C (Código de artículo 7006)**

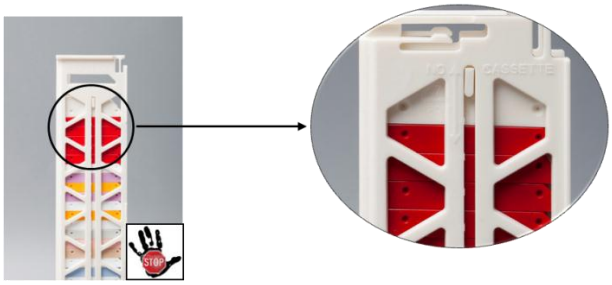


Figura 12a

<u>Nota:</u> Mantenga 1 espacio de casete entre el último casete y la retención del soporte. (Figura 12b)

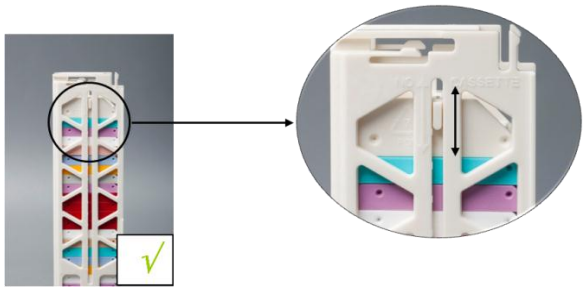


Figura 12b

Inclusión manual

El sistema de casetes Paraform® también puede utilizarse para incluír a mano sin utilizar AutoTEC®. Aun así podrá disfrutar de excelentes ventajas como la inclusión rápida y la ausencia de contaminación inter-paciente en las muestras, porque los casetes no tienen que abrirse después del tallado. Las muestras ya se han orientado durante el tallado.

Pasos para la inclusión manual

1. Coloque los moldes base con la flecha señalando hacia el lado del área de escritura del marco del casete. (**Figura 14a+b**)
2. Coloque el casete en el molde base antes de verter la parafina. (**Figura 15a+b**)
3. Utilice el cuño Paraform® para hacer pasar el casete por el marco. Mantenga el cuño caliente para evitar la acumulación de parafina. (**Figura 16**)
4. Al verter la parafina, coloque el casete en ángulo de 30° con la superficie frontal hacia arriba para permitir que las burbujas de aire escapen por el orificio de ventilación.
5. Golpee suavemente el molde con un fórceps varias veces si hay burbujas grandes de aire.
6. Deje que los bloques se solidifiquen.

Figura 14a

Figura 14b

Consejos para inclusión manual

- ✓ Utilice los moldes base Paraform® (código de artículo 7055-7057)
- ✓ Utilice el medio de procesamiento/inclusión Paraform® fórmula 3 (código de artículo 7052)
- ✓ Mantenga un flujo de parafina muy bajo en el centro de inclusión

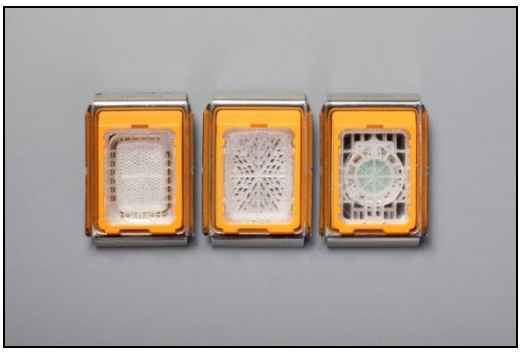


Figura 15a

- ✓ Ajuste la temperatura de la placa fría en -5/-6°C.
- ✓ Compruebe que los moldes base no estén curvados.

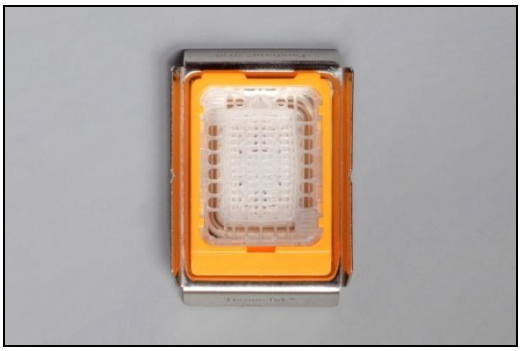


Figura 15b

Figura 16
Cuño Paraform® (código de artículo 7015)

Figura 16

Microtomía

1. Inserte el bloque Paraform® en el porta-muestras del microtomo, en horizontal o vertical, según el tipo de casete. (Los casetes de biopsia Core, biopsia Shaved y de Orientación han de cortarse en vertical).
2. Coloque el porta-muestras del microtomo recto y paralelo a la cuchilla frente a los bloques
3. Desbaste el bloque a 20µm y reduzca el valor de micras una vez retirado el fondo del casete.
4. Después recorte el bloque hasta que el tejido quede totalmente expuesto. (Las paredes del casete serán apenas visibles formando un rectángulo en torno a la muestra).
5. Utilice la cuchilla para microtomía desechable Paraform® (código de artículo 7089)
6. Ajuste la temperatura de la placa fría en -5/ ºC.
7. Puede quedar un borde de Paraform® en la sección, pero no absorberá ningún tinte.
8. Desbaste los bloques a temperatura ambiente

<u>Nota</u>: No recorte los bloques por los lados. Si recorta los lados del bloque, perderá la conexión con el marco.

Correcto
(Figura 17a)

Incorrecto
(Figura 17b)

Re-inclusión de tejido incluído en bloques Paraform®

Recomendaciones sobre cómo re-incluir los casetes Paraform® cuando la orientación no es buena y la parte inferior de los casetes ya se ha recortado.

1. Funda el bloque en el molde base Paraform® con el tamaño apropiado para inclusión manual.
2. Extraiga los casetes Paraform® del marco.
3. Re-oriente el tejido en la parte inferior del molde base mientras éste se encuentra en el punto caliente del TEC®.
4. Vierta una pequeña cantidad de parafina en el molde base, coloque el tejido en la posición adecuada y después sitúe el molde base en el punto frío.
5. Coloque el mismo marco en el molde base (como haría normalmente con los casetes convencionales).
6. Vierta la parafina en la parte superior del marco del casete y deje que se solidifique.

Especificaciones del casete Paraform®

Casete estándar Paraform® (7021)

Especificaciones:
El casete estándar Paraform® se ha concebido para usarse con tejidos grandes. El tamaño del casete interior es 29*22*3 mm.

Tipo de tejido recomendado:
- ✓ Apéndice
- ✓ Mama
- ✓ Colon
- ✓ Placenta
- ✓ Amígdalas

Figura 18 Casete estándar Paraform®

Dimensiones del tejido

	Mín.	Máx
Longitud	10 mm	27 mm
Anchura	5 mm	20 mm
Profundidad	1 mm	3 mm

Figura 19a

Cierre:
Cierre la tapa presionando suavemente el tejido, con los dedos o pinzas, hasta que la tapa se enganche en las cuatro esquinas y quede bloqueada.

Figura 19a+b ejemplo de casete y bloque estándar

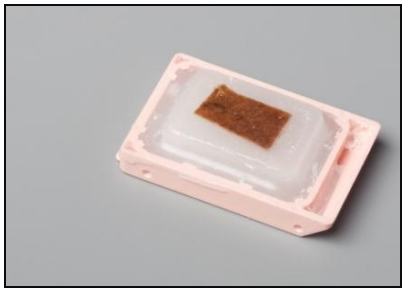


Figura 19b

Casete para biopsia Paraform® (7020)

Especificaciones:
Los casetes para biopsia Paraform® están destinados a muestras de tejido más pequeñas o fragmentadas. El tamaño del casete interior es: 20*13*3 mm. La red es más espesa que en el casete Paraform® estándar.

Tipo de tejido recomendado:
- ✓ GI
- ✓ Hígado
- ✓ Piel
- ✓ Amígdalas

Figura 20 Casete para biopsia Paraform®

Espuma azul

El casete para biopsia Paraform® puede usarse con o sin inserción de espuma azul. Está inserción de espuma puede sostener planos los tejidos pequeños en el fondo del casete. El tejido se presiona hacia abajo y se mantiene en un nivel. De este modo se facilita la microtomía y resulta más fácil obtener preparaciones representativas sin perder demasiado tejido. La espuma se incluye con el tejido y puede cortarse fácilmente.

Dimensiones del tejido

	Mín.	Máx
Longitud	5 mm	20 mm
Anchura	5 mm	13 mm
Profundidad	1 mm	3 mm

Nota: Si se utiliza la espuma, durante la microtomía debe cambiarse la hoja desechable con mayor frecuencia.

Figura 21:
Casete para biopsia Paraform® con espuma azul

Figura 21

Cierre
No presione las esquinas DEMASIADO. Mantenga la tapa en posición horizontal.
Cierre el casete hasta que la tapa quede sujeta en las 4 esquinas y bloqueada.

Casete para biopsia Paraform® 13*13 (7019)

Especificaciones:
El casete Paraform® 13*13 se ha pensado para incluir biopsias muy pequeñas o muestras de fragmentos pequeños. Siempre se inserta una pequeña esponja en la tapa.

Nota: No utilice el casete Paraform® 13*13 si falta la esponja.

Tipo de tejido recomendado (biopsias pequeñas):
- ✓ GI
- ✓ Pulmón
- ✓ Piel
- ✓ Biopsia por punción con aguja gruesa (Core)

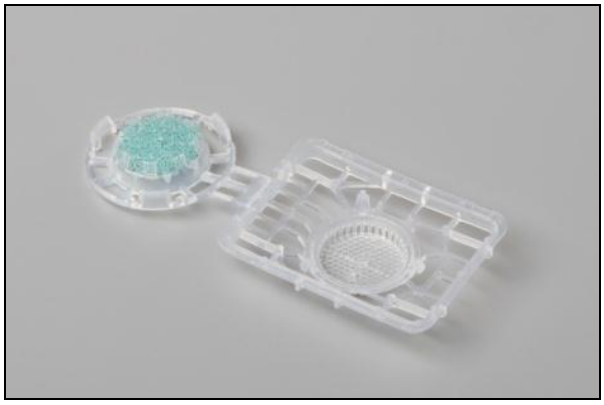


*Figura 22 Casete Paraform® 13*13*

Cierre

El mecanismo de cierre es diferente de los demás casetes. Se trata de un sistema de "clic y cierre". Los tres pestillos se cierran con una presión del dedo. Pueden utilizarse dos métodos diferentes para incluír tejido y cerrar el casete Paraform® 13*13.

Dimensiones del tejido

	Mín.	Máx
Longitud	0,5 mm	10 mm
Anchura	0,5 mm	10 mm
Profundidad	0,5 mm	1-2 mm

Método 1 (figura 23)

Coloque el tejido en el casete antes de situarlo en el marco.

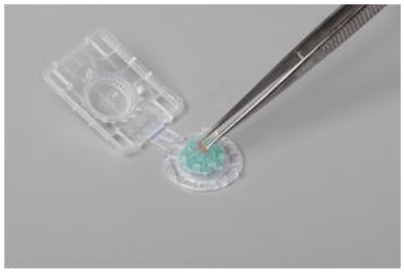
- ✓ Moje las pinzas en formol antes de tomar el tejido.
- ✓ Coloque el tejido en el centro de la *esponja.*
- ✓ Cierre el casete plegando el cuerpo del casete sobre la tapa del casete, con la tapa del casete apoyada plana sobre el fondo.
- ✓ Cierre la tapa de forma segura.
- ✓ Coloque el marco impreso/etiquetado en una superficie plana, deslice dentro el casete Paraform® 13*13 ya cerrado.
- ✓ Compruebe en la parte inferior si la biopsia se ha incluído de forma correcta.

Método 2 (figura 24)

Coloque el tejido en el casete antes de situarlo en el marco.

- ✓ Coloque el marco impreso/etiquetado en una superficie plana, deslice dentro el casete Paraform® 13*13 abierto.
- ✓ Coloque el tejido en el centro del casete.
- ✓ Cierre el casete presionando la tapa con un dedo. Cierre los 3 pestillos de forma segura presionando con el dedo hasta que hagan clic.
- ✓ Compruebe en la parte inferior si la biopsia se ha incluído de forma correcta.

Figura 23



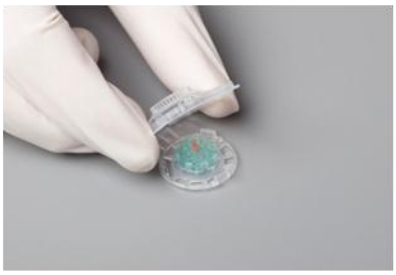


Figura 24

Casete de orientación Paraform® (7022)

Especificaciones:

El casete de orientación Paraform® debe utilizarse con muestras de tejido que requieran una orientación "de lado" (como piel, vesícula biliar) o muestras con lumen (como las arterias).El casete de orientación tiene el mismo tamaño que el casete para biopsias Paraform® y se incluye utilizando el mismo molde base. El tamaño del casete interior es: 22*15*3 mm.

El casete de orientación Paraform® tiene púas para sostener el tejido que debe incluirse de lado sin perder la orientación.

Figura 25 Casete de orientación Paraform®

Tipo de tejido recomendado:

- ✓ Vesícula biliar
- ✓ Piel
- ✓ Vejiga
- ✓ Arterias

Dimensiones del tejido

	Mín.	Máx
Longitud	3 mm	20 mm
Anchura	5 mm	13 mm
Profundidad	0,5 mm	3 mm

Cierre:

1. Si utiliza un casete de orientación Paraform®, coloque el tejido entre las púas para situarlo de forma correcta y posicionarlo correctamente para cortar el área de interés. (**Figura 26**)
2. Deje 2 mm de espacio entre las muestras de tejido.
3. No presione las esquinas DEMASIADO. Mantenga la tapa en posición horizontal.
4. Cierre la tapa, que tiene aberturas para que las púas sobresalgan por ella.

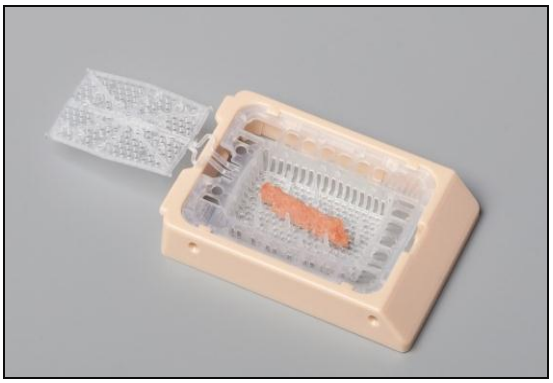


Figura 26

<u>Nota</u>: puede pintar las púas del casete con un lápiz negro durante el tallado para ayudar a hacerlos más visibles.

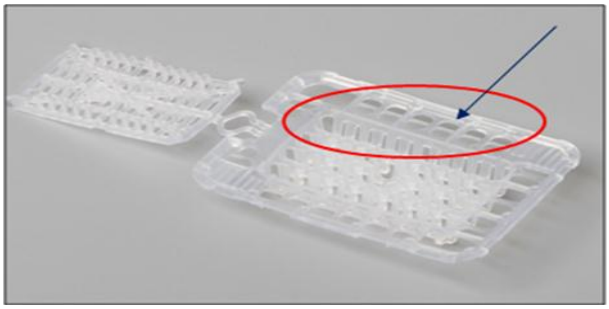
Casete para biopsia Shaved Paraform® (7023)

Especificaciones

El casete para biopsia Shaved Paraform® es de 13 mm x 22 mm con 4 canales. Este casete Paraform también incluye unas falanges finas para sostener el tejido en los canales. El casete para biopsia Shaved Paraform® está destinado al uso con muestras de piel afeitadas (Shaved) con longitud mínima de 3 mm y máxima de 17 mm.

Identificadores visuales

El casete para biopsia Shaved Paraform® se identifica con una línea que divide los espacios abiertos en los cuadrados del borde plano en los lados de la inserción que rodea el área del receptáculo.



Línea para identificar el casete de biopsia Shaved Paraform® (Figura 27)

Tipo de tejido recomendado

Muestras de piel afeitadas (Shaved)

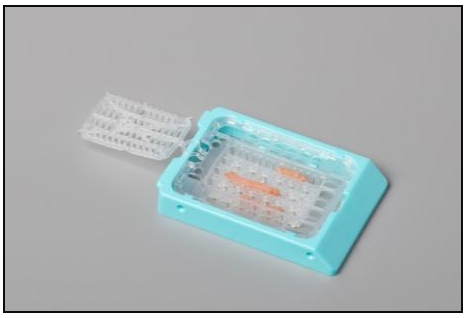


Figura 28

Dimensiones del tejido

	Interior canales mínimo	Interior canales máximo	Exterior canales mínimo	Exterior canales máximo
Longitud	3 mm	17 mm	3 mm	20 mm
Grosor	0,6 mm	1 mm	1 mm	1,5 mm
Altura	1,8 mm	2,5 mm	1,8 mm	2,5 mm

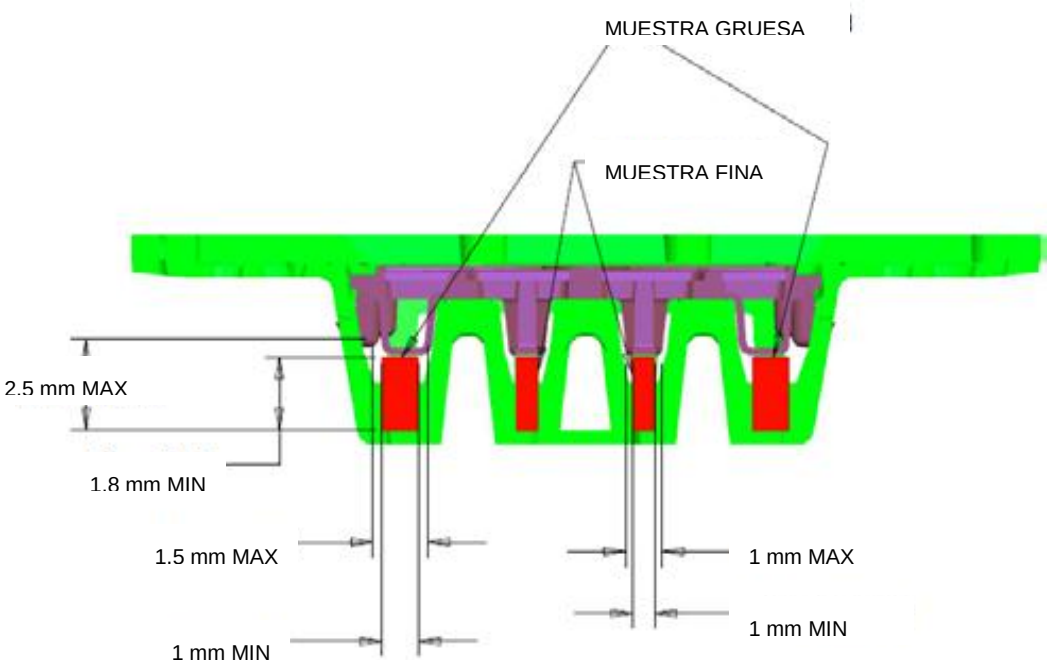
Cierre

Aunque la muestra de tejido es muy fina y frágil, las falanges sostienen la muestra por el borde. Utilice más de un casete si es necesario. Adelante la tapa sobre el tejido en el casete, utilizando las pinzas o los dedos hasta que la tapa encaje en las cuatro esquinas (primero el área de bisagra) y quede bloqueada. Es crítico que las cuatro esquinas estén encajadas.

<u>Nota</u>: Durante la microtomía, es muy crítico enfriar el bloque. Ajuste en la placa fría en -10°. El bloque debe cortarse en posición vertical.

<u>Nota</u>: Asegúrese de que el tejido se inserta de modo que toque el fondo del casete.

Ilustración de casete para biopsia Shaved Paraform®



Casete para biopsia Core Paraform® (7024)

Especificaciones:
El casete para biopsia Core Paraform® es de 13mm x 22mm con 4 canales. El casete Core se destina a muestras de biopsia por perforación con aguja gruesa con un diámetro mínimo del núcleo de 0,8 mm.

Tipo de tejido recomendado
Muestras de biopsia por perforación como:
- ✓ Pecho
- ✓ Próstata

Casete para biopsia Core Paraform®
(Figura 29)

Dimensiones del tejido

	Mín.	Máx
Longitud	3 mm	20 mm
Diámetro	0,8 mm	1,2 mm

<u>Nota</u>: El fondo negro puede ayudar en la visualización de la colocación de la muestra.

Cierre:
Adelante la tapa sobre el tejido en el casete, utilizando pinzas o los dedos hasta que la tapa encaje en las cuatro esquinas (primero el área de bisagra) y quede bloqueada.

Precaución: Es crítico que las cuatro esquinas de la tapa estén encajadas.

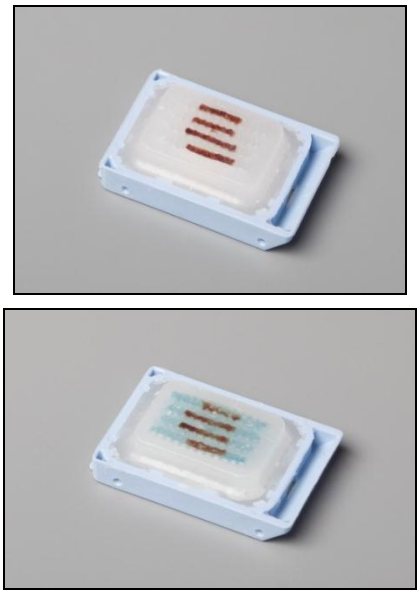


Figura 30a+b

El casete para biopsia Core Paraform® puede usarse con o sin inserción de espuma azul (figura 31). Esta inserción de espuma puede sostener planos los tejidos pequeños en el fondo del casete. El tejido se presiona hacia abajo y se mantiene en un mismo nivel. De este modo se facilita la microtomía y resulta más fácil obtener preparaciones representativas sin perder demasiado tejido. La espuma se incluye con el tejido y puede cortarse fácilmente.

Nota: **Si se utiliza la espuma, durante la microtomía debe cambiarse la hoja desechable con mayor frecuencia.**

Nota: Durante la microtomía, es muy importante enfriar el bloque. Ajuste en la placa fría en -10°. El bloque debe cortarse en posición vertical.

Figura 31

Recomendaciones de Sakura

	Casete de biopsia	Casete estándar	Casete de orientación	Casete 13x13	Casete Shaved	Casete Core
Piel con mucha grasa	x	x	x			
Mama		x				
Biopsias de próstata				x		x
Córnea		x	x			
Vesícula biliar	x	x	x			
Estómago	x	x	x			
Hemorroides	x	x	x			
Cérvix	x	x				
Útero	x	x				
Bazo	x	x				
Amígdalas	x	x				
Otros pólipos	x	x				
Biopsia gastrointestinal				x		x
Biopsias de pulmón				x		
Fluido pleural		x				
Tejido cerebral		x				
Médula ósea		x				
Saco Hidrocélico				x		
Biopsias de mama				x		x
'Chips' de vejiga		x				
Lipoma (grasa)		x				
Otro apéndice		x				
Biopsias de hígado				x		
Colon	x	x				
Ovario	x	x				
Nódulos linfáticos	x			x		
Placenta	x	x				
'Chips' de próstatab		x				
Muestras de piel afeitadas					x	